

## 明 細 書

### アレルギー体質改善剤

### 技術分野

- [0001] 本発明は、IgE抗体産生抑制作用を有し、アレルギー体質の改善に有効なアレルギー体質改善剤に関する。

### 背景技術

- [0002] 今日、環境条件の悪化や生活様式の変化、社会生活の複雑化にともなうストレスの増加等により、特に先進工業国において、花粉症、アレルギー性鼻炎、気管支喘息、アトピー性皮膚炎、薬物による蕁麻疹等のアレルギー性疾患を引き起こしやすいアレルギー体質の人が増加している。従って、アレルギー体質を改善する対策が強く求められている。
- [0003] アレルギーとは、本来、外敵(異物)を攻撃し、自己の防衛機能として働く免疫系が異常に過敏状態に陥り、自身の組織を攻撃することにより起こる疾患であり、4つの型に分類されている。I～III型アレルギーは、いずれも抗体による反応で、特にI型アレルギーは抗原と接触後2～3分で症状が現れ、十数分で最高となるため、即時型アレルギーと呼ばれ、IV型アレルギーはリンパ球が関与し、抗原が体内に侵入して24～48時間経ってからゆっくりと症状が現れることから、遅延型アレルギーと呼ばれる。I型アレルギーにはアトピー性皮膚炎、急性蕁麻疹、気管支喘息、花粉症、鼻炎、胃腸アレルギー等があり、発症頻度は最も高い。II型アレルギーには、溶血性貧血、血小板の減少、血液型不適合、薬剤アレルギー等が含まれ、III型アレルギーには血清病、糸状体腎炎、慢性肺臓炎、慢性関節リウマチ、ウイルス性肝炎等が含まれ、IV型アレルギーには接触皮膚炎、結核、臓器移植の拒絶反応、金属アレルギー等が含まれる。
- [0004] IgE抗体が関与するI型アレルギーの発症機序は以下のように考えられている。すなわち、卵、牛乳、大豆等の食物抗原やダニ、花粉等の吸入抗原等、各種外来抗原が体内に侵入し、これ抗原提示細胞が取り込み、CD4<sup>+</sup>T(ヘルパーT)細胞に対して抗原提示する。抗原提示細胞によって提示された抗原を認識したヘルパーT細胞

は、B細胞と相互作用し、B細胞を抗体産生細胞へ分化増殖させる。

- [0005] ヘルパーT細胞は、その産生するサイトカインの種類によって、主に細胞性免疫を誘導するI型ヘルパーT細胞(Th1細胞)と液性免疫を誘導するII型ヘルパーT細胞(Th2細胞)の2種類に分類される(例えば、非特許文献1参照)。Th1細胞の産生するサイトカインは、インターロイキン2(IL-2)、インターフェロン $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、TGF- $\beta$ 等であり、Th2細胞は、IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13等を産生する。抗原未感作なナイーブT細胞は、抗原提示細胞IL-12を作用させるとTh1細胞に、抗原提示細胞とIL-4を作用させるとTh2細胞に分化することが知られている。
- [0006] アレルギー反応に関わるTh2細胞の相互作用を受けたB細胞は、抗体産生細胞に成熟・増殖し、IgM抗体次いでIgG1抗体を産生し、最終的にIgE抗体を産生するようになる。一方、Th1細胞の相互作用を受けたB細胞は、IgM抗体、IgG2a抗体、IgG2b抗体、IgG3抗体を産生する抗体産生細胞へ成熟・増殖するが、Th1細胞の最も重要な働きは、その産生するIFN- $\gamma$ の作用によってマクロファージを活性化し、細胞性免疫を誘導することにある。
- [0007] 産生されたIgE抗体は肥満細胞の表面に結合し、特異抗原がこのIgE抗体に結合すると、肥満細胞が活性化し、ヒスタミン等の炎症性物質が放出され、アレルギー症状が誘発する。さらに肥満細胞から放出された走化性因子は、炎症作用を有する好酸球を誘引し、炎症が増幅するほか、同様に肥満細胞が産生したインターロイキン4(IL-4)やIL-13はB細胞によるIgE抗体産生をさらに促進する。
- [0008] Th1細胞とTh2細胞は互いの働きを抑制しあう側面があり、例えばTh1細胞が産生するIFN- $\gamma$ は、IgE抗体の産生を抑制することが知られている。健康な状態ではTh1/Th2細胞のバランスが保たれ、侵入した抗原に対してIgE抗体は産生されないが、アレルギー患者では、Th1/Th2細胞のバランスが乱れ、侵入した抗原に対して、Th1細胞よりもTh2細胞が優位に応答する状態にあり、IgE抗体が関与するアレルギーが誘発されやすい体質になっていると考えられている(例えば、非特許文献2参照)。
- [0009] 従来、アレルギー疾患の予防或いは治療には、ステロイド剤、抗ヒスタミン剤、ケミカルメディエーター遊離抑制剤、免疫抑制剤等の薬剤が用いられてきた。また、加水

分解されたグルコマンナンやガラクトマンナンが、腸内においてアレルゲンや微生物の取り込みを減少させる効果を有することも報告されている(例えば、特許文献1参照)。しかしながら、これらはいずれもアレルギー症状の発症を抑えるものであったり、アレルギー症状を緩和させるものであり、アレルギー体質を改善するものではない。

[0010] これに対して、IgE抗体の産生を抑制するような薬剤は、アレルギー体質を改善するものとして期待され、トシル酸スプラタスト、ストリクチニン等の化合物が見出されている。また、グルコマンナンやこれの粉碎処理物に、IgE抗体産生抑制作用があることも報告されている(例えば、特許文献2参照)。

しかしながら、トシル酸スプラタスト等の化合物には副作用等の問題があり、上述のグルコマンナンでは、効果が不十分である、微細加工に特殊の装置・技術を必要とする、作用発現にまで時間がかかる、注射剤としては不適であり製剤処方に制限がある等の問題がある。

特許文献1:特表2003-513893号公報

特許文献2:特開2003-55233号公報

非特許文献1: Mosmann, T. R. et al. : J. Immunol. , 136, 2348-2357, 1986

非特許文献2: 標準免疫学 編集: 谷口克、宮坂昌之 医学書院 2001

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0011] 本発明は、アレルギー体質の改善に有効であり且つ安全で摂取しやすい、アレルギー体質改善剤を提供することを目的とする。

課題を解決するための手段

[0012] 本発明者らは、食物繊維の抗アレルギー作用に着目し、鋭意検討を重ねた結果、水溶性食物繊維を加水分解して得られる多糖類が、優れたIgE抗体産生抑制作用を有すると共に接種しやすく、アレルギー体質改善効果を発揮する医薬又は食品として有用であることを見出し、本発明を完成した。

[0013] すなわち本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするアレルギー体質改善剤を提供するものである。

- [0014] また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするIgE抗体産生抑制剤を提供するものである。
- [0015] また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を含有するアレルギー体質改善食品を提供するものである。
- [0016] また本発明は、アレルギー体質改善剤を製造するための水溶性食物繊維の加水分解物の使用を提供するものである。
- [0017] また本発明は、IgE抗体産生抑制剤を製造するための水溶性食物繊維の加水分解物の使用を提供するものである。
- [0018] また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を投与することを特徴とするアレルギー体質改善方法を提供するものである。
- [0019] また本発明は、水溶性食物繊維の加水分解物を投与することを特徴とするIgE抗体産生抑制方法を提供するものである。

#### 発明の効果

- [0020] 本発明の水溶性食物繊維の加水分解物は、IgE抗体産生抑制作用を有することから、アトピー性皮膚炎を始めとするI型アレルギーを発症しやすい人の体質改善に有効である。また、本発明の水溶性食物繊維の加水分解物は、低分子であり易溶性であることから、経口投与製剤の他、注射剤等の非経口投与剤とすることも可能である。更に、食物繊維は日常的に食されていることから本発明品も安全性に問題は無く、高齢者から乳幼児に至るまで、安全で摂取しやすい食品として使用できる。

#### 図面の簡単な説明

- [0021] [図1]コンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を示したグラフである。
- [図2]ガラクトマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を示したグラフである。
- [図3]異なる濃度の塩酸により加水分解されたコンニャクグルコマンナンのゲルろ過クロマトグラフである。
- [図4]異なる濃度の塩酸により加水分解されたコンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果を示したグラフである。
- [図5]マウス表皮細胞抽出物により誘起されるIgE産生に対するコンニャクグルコマン

ナン加水分解物の抑制効果を示したグラフである。

### 発明を実施するための最良の形態

- [0022] 食物繊維とは、ヒトの消化酵素で消化されない食品中の難消化性成分の総体と定義されており、水溶性食物繊維と非水溶性食物繊維に分類される。このうち、本発明においては、水溶性食物繊維が用いられる。水溶性食物繊維は、保水性が高く、通常水を加えると粘性の高い液状を呈するものであり、具体的には、グルコマンナン、ガラクトマンナン、水溶性ペクチン、アルギン酸、カラギーナン、フコイダン、アガー等が挙げられ、このうち効果の点からグルコマンナン、ガラクトマンナンが好ましい。
- [0023] 水溶性食物繊維の加水分解物としては、上記水溶性食物繊維又はこれを含む原料、例えばコンニャク、ペクチンをマンナナーゼ、ペクチナーゼ等の酵素や酸、アルカリ等により加水分解して得られる分解物が挙げられるが、操作性、再現性、経済性等の点から、鉱酸、中でも塩酸を用いて加水分解されたものが好ましい。
- [0024] 加水分解の条件は、特に限定されず、用いる原料に応じて適宜選択すればよい。例えば、酵素により加水分解する場合は、通常、水溶性食物繊維又はこれを含む原料を0.1〜5重量%の溶液とし、用いる酵素の作用pH域、作用温度域で、通常30分〜20時間程度、酵素を作用させればよい。
- [0025] また、酸・アルカリを用いた加水分解は、水溶性食物繊維又はこれを含む原料を0.1〜5重量%の溶液とし、酸・アルカリを作用させればよい。例えば塩酸を用いる場合、塩酸濃度は0.05N〜1.5N、好ましくは0.125N〜1N、加水分解温度は35℃〜90℃、好ましくは45℃〜80℃、加水分解時間は30分〜3時間、好ましくは1時間〜2時間の範囲内で行えばよい。
- [0026] 得られた加水分解物は、必要に応じて、遠心法、カラム法、限外濾過法等、公知の手法により、分離精製し、乾燥して用いることができる。
- [0027] 尚、上記加水分解により得られる加水分解物としては、分子量が、数百ダルトン(D)〜1000キロダルトン(KD)の範囲にあるものが好ましく、数KD〜数100KD程度のものがIgE産生抑制効果及び製剤処方からより好ましい。
- [0028] 斯くして得られた水溶性食物繊維の加水分解物は、後記実施例に示すようにIgE抗体産生抑制作用を有することから、IgE抗体産生抑制剤として、またアトピー性皮

膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎等のI型アレルギーを発症しやすい人の当該アレルギー体質を改善するためのアレルギー体質改善剤として、医薬品、食品等の形態で利用できる。

[0029] 本発明のアレルギー体質改善剤、IgE抗体産生抑制剤を医薬品として用いる場合、経口投与剤、非経口投与剤のいずれの製剤にもすることができ、例えば錠剤、顆粒剤、カプセル剤、粉末剤等の固形製剤、シロップ剤、エリキシル剤等の液状製剤の他、注射剤、坐剤、吸入剤(スプレー)、点眼、外用剤とすることができる。

[0030] 斯かる製剤は、水溶性食物繊維の加水分解物を常法に従って薬学的に許容される担体と共に種々の剤型とすればよい。例えば、経口用固形製剤を調製する場合には、水溶性食物繊維の加水分解物に賦形剤、必要に応じて結合剤、崩壊剤、滑沢剤、着色剤、矯味剤、矯臭剤等を加えた後、常法により錠剤、被覆錠剤、顆粒剤、散剤、カプセル剤等を製造することができる。また、注射剤とする場合は、担体として、例えば水、エチルアルコール、マクロゴール、プロピレングリコール等の各種希釈剤、pH調整剤及び緩衝剤、安定化剤、更に溶解補助剤、無痛化剤、局所麻酔剤等を適宜添加し、常法により皮下、筋肉内、静脈内用注射剤とすればよい。

[0031] 本発明のアレルギー体質改善剤、IgE抗体産生抑制剤を健康食品、保健機能食品等の食品とする場合には、ビスケット類、チョコレート類、キャンデー類、チューインガム類、スナック菓子類、油菓類、アイスクリーム類、ゼリー菓子等の菓子、パン類、めん類、豆腐等の大豆加工品、ヨーグルト、バター等の乳製品、ソース、ドレッシング、マヨネーズ、ふりかけ等の調味料、発酵乳、果汁飲料、スポーツドリンク、スープ等の飲料の形態とすることができる。

尚、斯かる食品には、さらに、一般にアレルギーに効果があるとされる、茶、紫蘇、甜茶、月見草、タンポポ、柿葉、よもぎ、柑橘類等を配合しても良い。

[0032] 上記アレルギー体質改善剤又はIgE抗体産生抑制剤の1日当たりの投与量は、患者の症状、体重、年齢、性別等によって異なり一概には決定できないが、水溶性食物繊維の加水分解物として通常成人1日当たり約30mg〜30g、好ましくは約100mg〜3gとすれば良く、これを1日1回又は2〜4回程度に分けて投与するのが好ましい。

[0033] 以下、実施例を示して本発明をさらに詳細かつ具体的に説明する。

## 実施例

[0034] 実施例1 コンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果

### (1)コンニャクグルコマンナン加水分解物の調製

コンニャクグルコマンナン(和光純薬)20mgを蒸留水2.4mLに懸濁し、50℃の水浴中で2時間振盪してコンニャクゲルを調製した。これに塩酸を終濃度0.2Nとなるように加えて2時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5Mリン酸緩衝液(pH6.5)を0.5mL添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(10000rpm、10min)して不溶物を除き、Sephacryl S-200(1×45cm)(Amersham Bioscience社)カラムに懸け10mMリン酸緩衝液(pH6.5)で分画溶出した。得られた画分の全糖をフェノール硫酸法によって測定したところ、溶出液量18〜22.5mLの位置にコンニャクグルコマンナンの加水分解物が溶出されることが分かった。この画分を集めリン酸緩衝液に対して透析した後限外濃縮器によって濃縮した。この加水分解物の糖としての濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

[0035] (2)コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

Balb/cマウス(8週齢、♂)の脾臓をISCOV培地中でほぐして細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M(CedarLane Laboratories社)を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4(R&D社、最終濃度100ng/mL)、抗CD-40抗体(Serotec社、最終濃度200ng/mL)、及び2-mercaptoethanol(最終濃度50nM)を含むISCOV培地で $2 \times 10^6$ /mLの濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレート各wellに180μL/Wellずつ分注した。これにPBS(-)10μL及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10μLを添加し、炭酸ガス培養器中で7日間培養した。培養後、Wellの培養上清を回収し産生された抗体濃度を測定した。IgEの測定は、Bethyl社のMouse IgE Quantitative ELISAキットを用い、製品付属の取扱説明書の方法に従って行った。

[0036] 図1に示すとおり、未加水分解コンニャクグルコマンナン、及びコンニャクグルコマン

ナンの構成糖の一つであるマンノースでは、IgE産生の抑制効果は見られなかった。これに対し、コンニャクグルコマンナン加水分解物を最終濃度で15、30、150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ の濃度で添加した培養では、培地中に産生されたIgEはコントロールに比べ濃度依存的に低下していた。特に、150  $\mu\text{g}/\text{mL}$ での抑制効果は顕著である。このことは、食物繊維が腸内細菌によって消化・低分子化されて始めてIgE産生抑制効果が現れることを示唆するものであり、従って、あらかじめ加水分解により低分子化された食物繊維は吸収性、即効性、有効性に優れるものと期待される。

[0037] 実施例2 ガラクトマンナンのIgE産生抑制効果

(1) ガラクトマンナン加水分解物の調製

グアーガム(Guar Gum)又はイナゴマメガム(Locust Bean Gum)(シグマ)20 mgを蒸留水2.4 mLにそれぞれ懸濁し、50℃の水浴中で3時間振盪してゲルを調製した。これに塩酸を終濃度0.2 Nとなるように加えて2時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5 Mリン酸緩衝液(pH6.5)を0.5 mL添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(1000 Orpm、10min)して不溶物を除きSephacryl S-200(1×45cm)カラムに懸け10 mMリン酸緩衝液(pH6.5)で分画溶出した。ガラクトマンナンの加水分解物は18〜22.5 mLの溶出位置に回収された。これをリン酸緩衝液に対して透析した後限外濃縮器によって濃縮した。この加水分解物の濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

[0038] (2) ガラクトマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

Balb/cマウス(8週齢、♂)の脾臓をISCOV培地中でほぐし細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M(CedarLane Laboratories社)を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4(R&D社、最終濃度100 ng/mL)、抗CD-40抗体(Serotec社、最終濃度200 ng/mL)、及び2-mercaptoethanol(最終濃度50 nM)を含むISCOV培地で $2 \times 10^6/\text{mL}$ の濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレートの各wellに180  $\mu\text{L}/\text{Well}$ ずつ分注した。これにPBS(-)10  $\mu\text{L}$ 及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10  $\mu\text{L}$ を添加し炭酸ガス



培養器中で7日間培養した。培養後、各々wellの培養上清を回収し産生されたIgE抗体濃度を測定した。

[0039] それぞれのガラクトマンナン加水分解物を最終濃度で50及び150  $\mu\text{g/mL}$ の濃度で添加した培養では、培地中に産生されたIgEはコントロールに比べ有意に低下していた。(図2)。

[0040] 実施例3 コンニャクグルコマンナンのIgE産生抑制効果における分子量分布

(1)コンニャクグルコマンナン加水分解物の調製

コンニャクグルコマンナン(和光純薬)20mgを蒸留水2mLに懸濁し75°Cの水浴中で1時間振盪してコンニャクゲルを調製した。これに各濃度の塩酸を終濃度で1.0N、0.5N、0.25N、0.125Nとなるように加えて1時間振盪した。室温に戻し水酸化ナトリウムを添加して塩酸を中和し、さらに0.5Mリン酸緩衝液(pH6.5)を0.5mL添加して溶液のpHを6.5に調整した。得られた加水分解物を遠心分離(10000rpm、10min)して不溶物を除き、HiPrep 26/60 Sephacryl S-300HR(2.6×60cm)(Amersham Bioscience社)カラムに懸けて10mMリン酸緩衝液(pH6.5)で分画溶出した。得られた画分についてフェノール硫酸法により全糖を測定したところ、加水分解物は塩酸の濃度が高いほど低分子量の位置に溶出されることが分かった(図3)。このゲル濾過カラムでの分子量分画範囲は、球状タンパクとして見積もった場合は10KDから1500KD、デキストランとして見積もった場合は2KDから400KDである(Amersham Bioscience社)。加水分解されたコンニャクグルコマンナン分子の特性からデキストランの分画範囲と類似の挙動をとると考えられることから、コンニャクグルコマンナン加水分解物は塩酸濃度を調節することによって、およそ1KDから400KD程度までの広い分子量分布の範囲で調製されたことになる(図3)。それぞれの全糖のピークを中心に画分を集め、1KDから数100KDの分子量範囲をカバーする一連の加水分解物を調製することができた。集めた画分をリン酸緩衝液に対して透析した後、それぞれ予想される分子量に対応する限外濃縮器を用いて濃縮した。これらの加水分解物の糖としての濃度をフェノール硫酸法によって測定した。

[0041] (2)コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

実施例1(2)及び実施例2(2)と同様の方法によりin vitro 抗体産生系におけるIgE産生抑制効果を調べた。試料としては、(1)で調製した分子量の異なるコンニャクグルコマンナン加水分解物を用いた。7日間培養後、各wellの培養上清を回収し産生されたIgE濃度を測定した。

[0042] 分子量の異なるコンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果は、塩酸濃度0.25Nで調製される分子量程度(球状タンパク換算では約60KD相当)までは小さくなるにつれてIgE産生抑制が強くなったが、それ以上の塩酸濃度では抑制効果は若干弱くなった(図4)。

[0043] 実施例4 ケラチノサイト抽出物によるIgE産生系に対するコンニャクグルコマンナン加水分解物の効果

アトピー性皮膚炎に伴い肌のかゆみがおこり、それを搔くことにより症状が悪化し、またかゆみが増大するという悪循環が見られる。この現象から、皮膚を搔くことによって、破壊された角化細胞(ケラチノサイト)が症状の悪化の原因であることが考えられる。ケラチノサイト(PAM-212細胞)の抽出物をBalb/cマウスに投与することによって、血中IgE産生が刺激されることが明らかにされている。また、Balb/cマウスの脾臓細胞を用いたin vitro IgE産生系にPAM-212細胞抽出物を添加することによって顕著にIgE産生が亢進することが明らかにされている(Yamamoto T, Kaneko S et al, (2002) Increase in serum IgE levels following injection of syngeneic keratinocyte extracts in BALB/c mice. Arch Dermatol Res 294:117-23、森本謙一、他、マウス角化細胞株由来IgE産生増強因子のIgEクラススイッチに及ぼす影響、アレルギー51(9・10), 992(抄), 2002)。そこで、ケラチノサイト抽出物によるin vitro IgE産生系を用いて、IgE産生亢進に対するコンニャクグルコマンナン加水分解物のIgE産生抑制効果を調べた。

[0044] (1)コンニャクグルコマンナン加水分解物のin vitro抗体産生系におけるIgE産生抑制効果

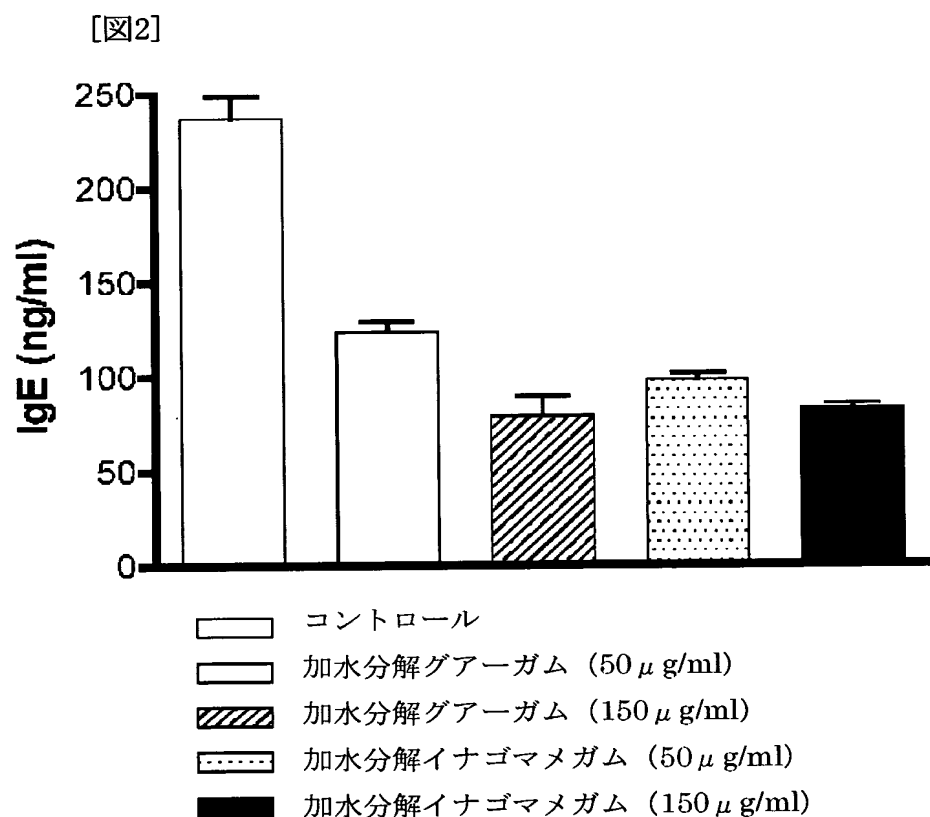
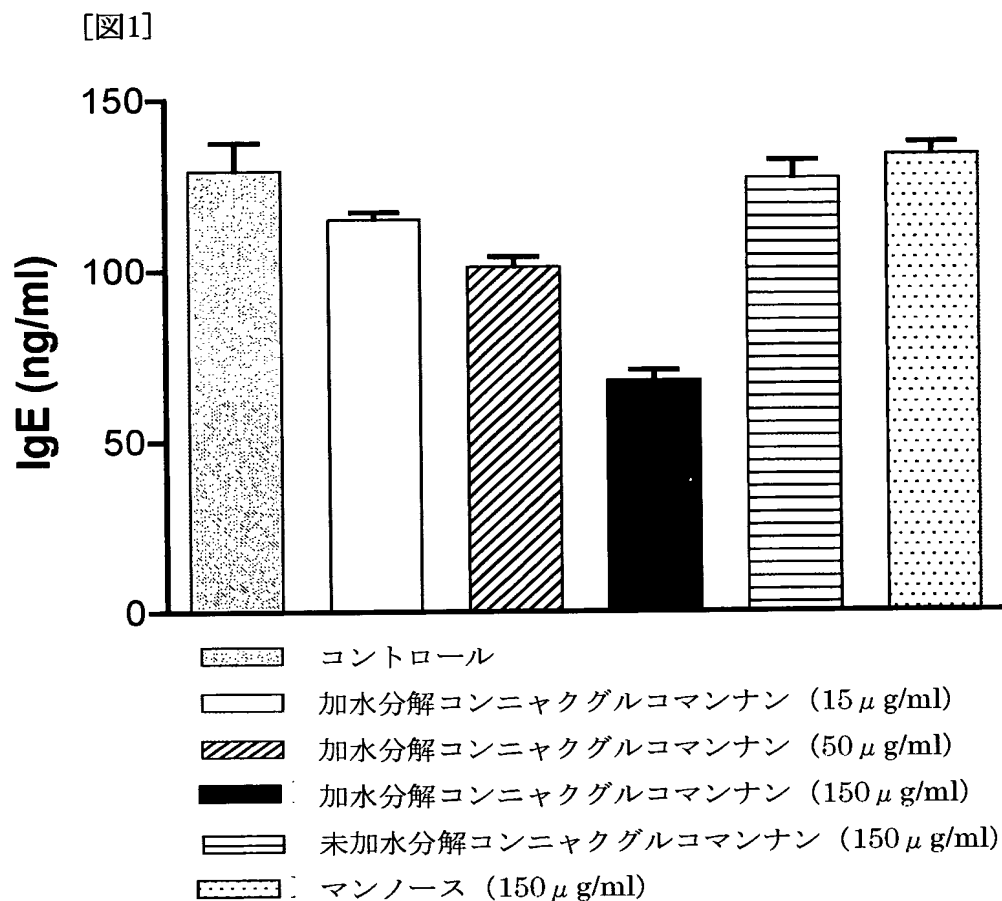
Balb/cマウス(8週齢、♂)の脾臓をISCOV培地中でほぐして細胞懸濁液を調製し、さらにLympholite-M(CedarLane Laboratories社)を用いた比重遠心分離法によりリンパ球分画を回収した。調製したリンパ球をIL-4(R&D社、最終濃度100

ng/mL)、抗CD-40抗体(Serotec社、最終濃度200ng/mL)、及び2-mercaptoethanol(最終濃度50nM)を含むISCOV培地で $2 \times 10^6$ /mLの濃度になるように調整し、96-wellマイクロプレート各wellに180  $\mu$ L/Wellずつ分注した。これにケラチノサイト抽出物10  $\mu$ L及びコンニャクグルコマンナン加水分解物10  $\mu$ Lを添加し、炭酸ガス培養器中で7日間培養した。コンニャクグルコマンナン加水分解物は実施例1(1)と同様にして調製した。培養後、各wellの培養上清を回収し産生されたIgE抗体濃度を測定した。

- [0045] ケラチノサイト抽出物の添加によりin vitro IgE産生は増加した。これにコンニャクグルコマンナン加水分解物を最終濃度で15、30、150  $\mu$ g/mLの濃度で添加した培養では、実施例1(2)と同様、明らかにIgE産生の増加を抑制したのに対し、未加水分解物では抑制効果はまったく認められなかった(図4)。

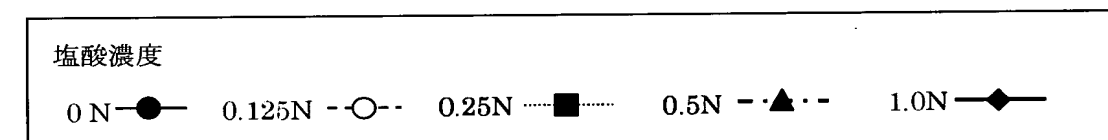
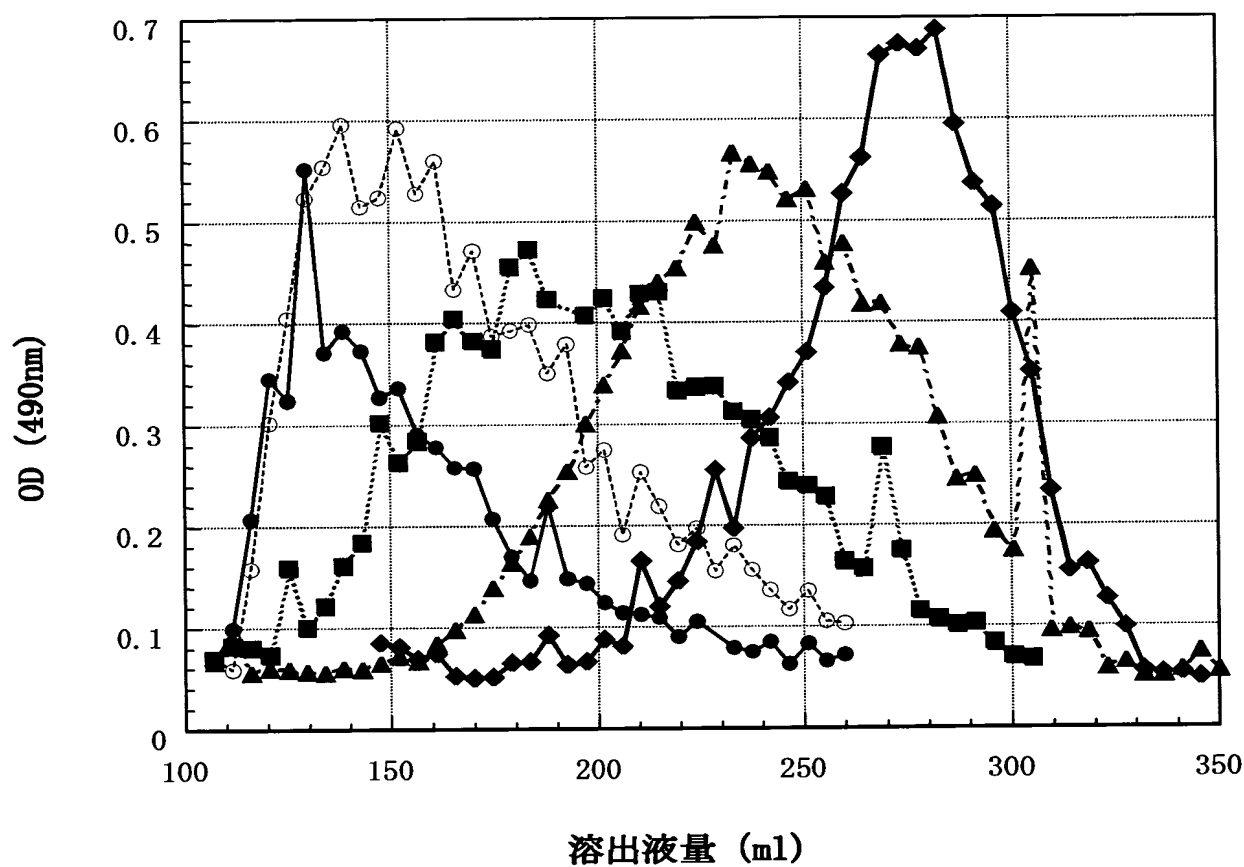
### 請求の範囲

- [1] 水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするアレルギー体質改善剤。
- [2] 水溶性食物繊維の加水分解物を有効成分とするIgE抗体産生抑制剤。
- [3] 水溶性食物繊維がグルコマンナン又はガラクトマンナンである請求項1記載のアレルギー体質改善剤又は請求項2記載のIgE抗体産生抑制剤。
- [4] 水溶性食物繊維の加水分解物を含有するアレルギー体質改善食品。
- [5] アレルギー体質改善剤を製造するための水溶性食物繊維の加水分解物の使用。
- [6] IgE抗体産生抑制剤を製造するための水溶性食物繊維の加水分解物の使用。
- [7] 水溶性食物繊維の加水分解物を投与することを特徴とするアレルギー体質改善方法。
- [8] 水溶性食物繊維の加水分解物を投与することを特徴とするIgE抗体産生抑制方法。

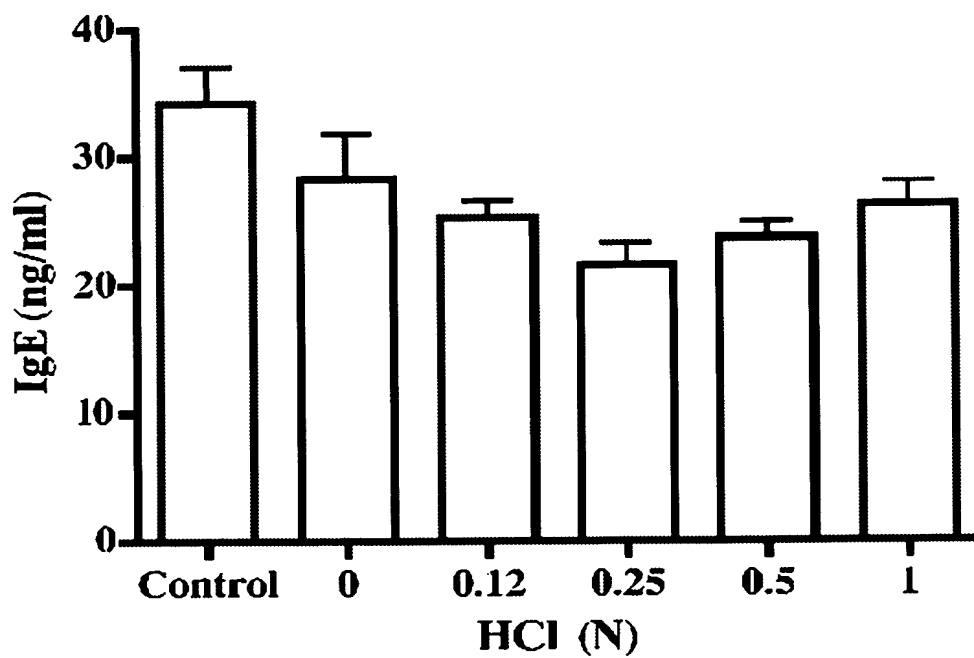


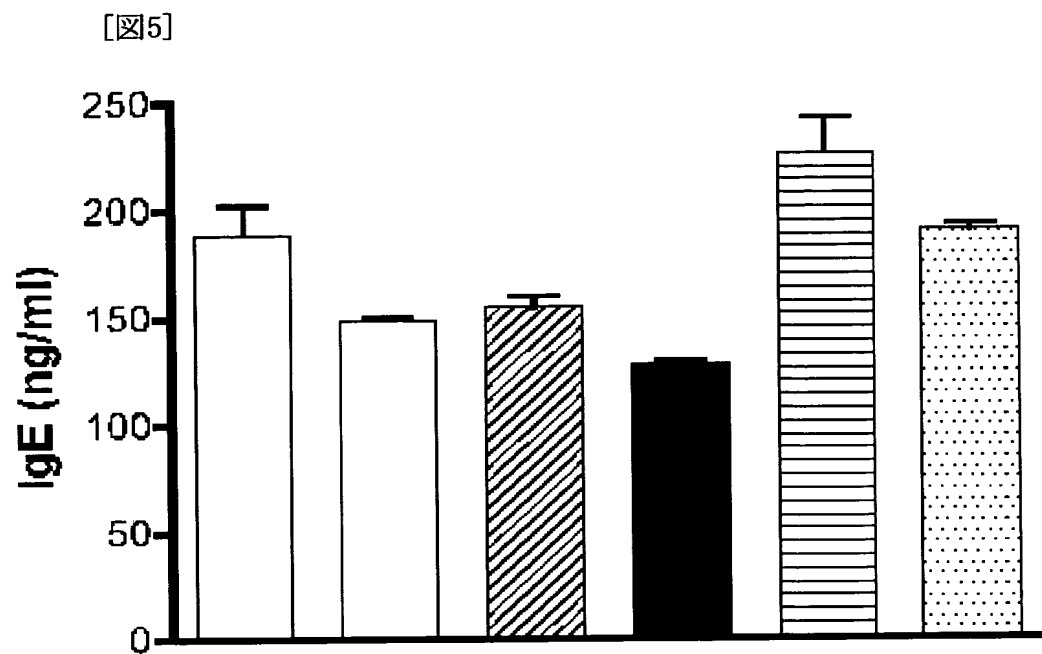
[図3]

HiPrep Sephacryl S-300HR カラムクロマトグラフ



[図4]





ケラチノサイト抽出物添加の系での in vitro IgE 産生

- コントロール
- 加水分解コンニャクグルコマンナン (15  $\mu$ g/ml)
- ▨ 加水分解コンニャクグルコマンナン (50  $\mu$ g/ml)
- 加水分解コンニャクグルコマンナン (150  $\mu$ g/ml)
- ▤ 未加水分解コンニャクグルコマンナン (150  $\mu$ g/ml)
- ▦ マンノース (150  $\mu$ g/ml)

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016676

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K31/715, A61P37/08, 43/00, A23L1/308//C08B37/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K31/715-A61K31/739, A23L1/308

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2001/013925 A1 (Takara Shuzo Kabushiki Kaisha), 01 March, 2001 (01.03.01), Full text & EP 1226826 A1	1, 2, 4-6
X	JP 2001-233777 A (Yakult Honsha Co., Ltd.), 28 August, 2001 (28.08.01), Full text (Family: none)	1, 2, 4-6
X	JP 2003-81841 A (Kikkoman Corp.), 19 March, 2003 (19.03.03), Full text (Family: none)	1, 2, 4-6

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
15 February, 2005 (15.02.05)

Date of mailing of the international search report  
08 March, 2005 (08.03.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016676

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP 2002-539809 A (N.V. Nutricia), 26 November, 2002 (26.11.02), Full text & WO 2000/057727 A1 & EP 1164874 A1	1-6
X	JP 2003-513893 A (N.V. Nutricia), 15 April, 2003 (15.04.03), Full text & WO 2001/033975 A1 & EP 1217902 A1	1-6
X	JP 9-208475 A (Kibun Food Chemifa Co., Ltd.), 12 August, 1997 (12.08.97), Full text (Family: none)	1,2,4-6
X	WO 2002/042484 A2 (SUDZUCKER AKTIENGESELLSCHAFT MANNHEIM/OCHSENFURT), 30 May, 2002 (30.05.02), Full text & CA 2428473 A & EP 1373543 A1 & US 2004/72791 A1	1,2,4-6
X	JP 7-330617 A (Meiji Milk Products Co., Ltd.), 19 December, 1995 (19.12.95), Full text (Family: none)	1,2,5,6
X	JP 2-222659 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 05 September, 1990 (05.09.90), Full text & EP 385598 A1 & US 4971814 A	4
X	JP 3-285640 A (Snow Brand Milk Product Co., Ltd.), 16 December, 1991 (16.12.91), Full text (Family: none)	4
X	JP 2-312542 A (Kabushiki Kaisha Kibun), 27 December, 1990 (27.12.90), Full text (Family: none)	4
X	JP 5-76310 A (Taiyo Kagaku Co., Ltd.), 30 March, 1993 (30.03.93), Full text (Family: none)	4
X	JP 5-246860 A (Morinaga Milk Industry Co., Ltd.), 24 September, 1993 (24.09.93), Full text (Family: none)	4

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016676

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P, X	JP 2004-224772 A (Asahi Breweries, Ltd.), 12 August, 2004 (12.08.04), Full text (Family: none)	1-6
P, X	JP 2004-107295 A (Dokuritsu Gyosei Hojin Nogyo Seibutsu-kei Tokutei Sangyo Gijutsu Kenkyu Kiko), 08 April, 2004 (08.04.04), Full text & WO 2004/026317 A1	1, 2, 4-6

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/016676

## Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 7, 8  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
These claims pertain to methods for treatment of the human body by therapy.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

### Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>7</sup> A61K31/715, A61P37/08, 43/00, A23L1/308 //C08B37/00			
B. 調査を行った分野 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. Cl <sup>7</sup> A61K31/715-A61K31/739, A23L1/308			
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語) CAPLUS (STN), MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), EMBASE (STN)			
C. 関連すると認められる文献			
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示		関連する 請求の範囲の番号
X	WO 2001/013925 A1(寶酒造株式会社)2001.03.01, 全文 & EP 1226826 A1		1, 2, 4-6
X	JP 2001-233777 A(株式会社ヤクルト本社)2001.08.28, 全文 (ファミリーなし)		1, 2, 4-6
X	JP 2003-81841 A(キッコーマン株式会社)2003.03.19, 全文 (ファミリーなし)		1, 2, 4-6
<input checked="" type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。			
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献			
国際調査を完了した日 15.02.2005		国際調査報告の発送日 08.3.2005	
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 關 政立 電話番号 03-3581-1101 内線 3452	

C (続き) 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP 2002-539809 A(エヌ・ヴィ・ヌートリシア)2002. 11. 26, 全文 & WO 2000/057727 A1 & EP 1164874 A1	1-6
X	JP 2003-513893 A(エヌ・ヴィ・ヌートリシア)2003. 04. 15, 全文 & WO 2001/033975 A1 & EP 1217902 A1	1-6
X	JP 9-208475 A(株式会社紀文フードケミファ)1997. 08. 12, 全文 (ファミリーなし)	1, 2, 4-6
X	WO 2002/042484 A2(SUDZUCKER AKTIENGESELLSCHAFT MANNHEIM/ OCHSENFURT)2002. 05. 30, 全文 & CA 2428473 A & EP 1373543 A1 & US 2004/72791 A1	1, 2, 4-6
X	JP 7-330617 A(明治乳業株式会社)1995. 12. 19, 全文 (ファミリーなし)	1, 2, 5, 6
X	JP 2-222659 A(森永乳業株式会社)1990. 09. 05, 全文 & EP 385598 A1 & US 4971814 A	4
X	JP 3-285640 A(雪印乳業株式会社)1991. 12. 16, 全文 (ファミリーなし)	4
X	JP 2-312542 A(株式会社紀文)1990. 12. 27, 全文 (ファミリーなし)	4
X	JP 5-76310 A(太陽化学株式会社)1993. 03. 30, 全文 (ファミリーなし)	4
X	JP 5-246860 A(森永乳業株式会社)1993. 09. 24, 全文 (ファミリーなし)	4
P X	JP 2004-224772 A(アサヒビール株式会社)2004. 08. 12, 全文 (ファミリーなし)	1-6
P X	JP 2004-107295 A(独立行政法人農業・生物系特定産業技術研究機 構)2004. 04. 08, 全文 & WO 2004/026317 A1	1, 2, 4-6

## 第Ⅱ欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第1ページの2の続き)

法第8条第3項 (PCT17条(2)(a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 7、8 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。  
つまり、

治療による人体の処置方法に関するものである。

2. ☐ 請求の範囲 は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、

3. ☐ 請求の範囲 は、従属請求の範囲であってPCT規則6.4(a)の第2文及び第3文の規定に従って記載されていない。

## 第Ⅲ欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第1ページの3の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるところの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったため、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。